

## Morphogénèse des feuilles et stipules de *Castanea sativa* Miller

B. JEUNE

**Résumé :** La croissance des jeunes ébauches foliaires et stipulaires de *Castanea sativa* est due à des divisions cellulaires généralisées sans activité apicale ou marginale particulières. Les éléments latéraux de la feuille apparaissent sur des ébauches déjà grandes (environ 1 mm) et en un temps très court. Leur mode d'apparition est mixte (acropète et basipète) et n'est pas dû au fonctionnement de centres générateurs apparents.

**Summary :** The early growth of leaves and stipules of *Castanea sativa* consists of generalized cellular divisions, without any noticeable apical or marginal activity. The lateral elements appear on a rather large primordium (about 1 mm long) and during a very short time. They appear basipetally and acropetally, without apparent generatives centers.

Bernard Jeune, Morphologie végétale, Université Pierre et Marie Curie, 7, quai Saint-Bernard, 75005 Paris, France.

Dans un article précédent, consacré à l'évolution des contours pendant la croissance foliaire (JEUNE, 1981), nous avons constaté que la période organogène, pendant laquelle les éléments essentiels de la feuille se mettent en place, est caractérisée, dans la plupart des cas, par le fonctionnement de 2 centres générateurs d'éléments latéraux. Les centres générateurs sont définis sur 3 critères :

- fixité du lieu d'apparition des éléments latéraux ;
- rythmicité de fonctionnement ;
- contiguïté entre éléments issus d'un même centre.

Dans trois cas, cependant, (feuilles de *Castanea sativa*, folioles de *Rhus typhina* et *Fraxinus excelsior*) les éléments latéraux apparaissent tardivement, presque simultanément et sans qu'on puisse observer de centres générateurs. Il nous fallait donc étudier plus en détail le cas de ces espèces et nous proposons, ici, l'analyse de la croissance des feuilles et stipules de *Castanea sativa* Miller.

### MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Les appendices étudiés proviennent de bourgeons prélevés sur des châtaigniers de la forêt de Fontainebleau (France) juste après la reprise de la végétation, début avril 1981. Ces bourgeons sont fixés au F.A.A., puis conservés dans l'alcool 70° ; ils sont colorés par le réactif de Schiff et

deshydratés ; les feuilles sont montées à plat dans le baume du Canada. Les dessins sont effectués à la chambre claire ; l'analyse quantitative fait appel aux tests statistiques simples habituels. Les feuilles adultes sont simples, elliptiques, dentées et à nervation parallèle (Pl. 1, I).

## DE L'INITIATION DE LA FEUILLE À L'ACQUISITION DE SA FORME

### 1. ÉVOLUTION DU CONTOUR FOLIAIRE ; ÉTUDE QUANTITATIVE

#### Description sommaire du développement

Peu après l'initiation de la feuille apparaissent 2 stipules latérales qui vont envelopper le primordium puis la jeune ébauche (Pl. 1, 3A, B, E et I). L'une d'elle est plus longue que l'ébauche foliaire (S), l'autre de longueur voisine (S').

Le limbe commence à apparaître sous forme de deux lignes minces parallèles sur les bords de la face ventrale du rachis long d'environ 500  $\mu\text{m}$  (Pl. 1, 3 C). L'élargissement reste faible pendant l'initiation des lobes latéraux (Pl. 1, 3 D-H) et ne devient sensible qu'après la formation des nervures latérales, parallèles entre elles, épaisses et correspondant à chacun des lobes latéraux (Pl. 1, 3 I). La forme est alors acquise, le développement ultérieur ne sera qu'un grandissement de toutes les parties.

Notons la présence (non figurée sur les schémas) de longs poils hyalins sur les nervures (faces ventrale et dorsale) et aussi de courts poils glanduleux sur la surface du limbe (Pl. 5, A-D).

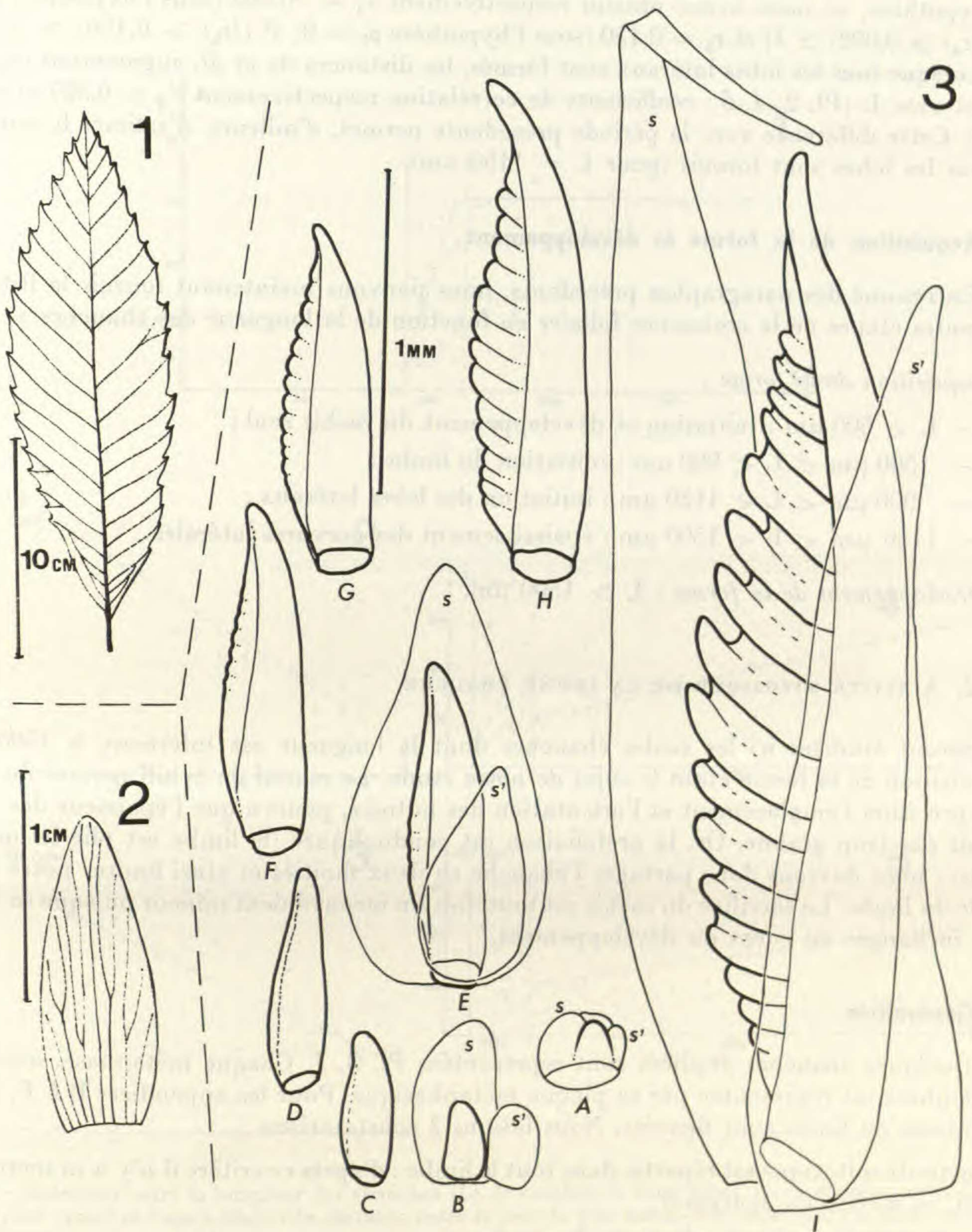
#### La formation des lobes latéraux

Sur chaque marge se forment, en moyenne, entre 15 et 16 lobes latéraux. Malgré ce nombre, leur ordre d'apparition est difficile à suivre, la plupart des ébauches étant fixées avant ou après la période convenable pour cette étude.

Les premiers lobes apparaissent dans la région médiane du limbe (Pl. 1, 3 E ; 5, A) ; les suivants se forment de part et d'autre des premiers, en ordre acropète et basipète (Pl. 1, 3 F-H ; 5, B, C). Dans notre échantillonnage de 22 ébauches fixées à ce stade, 19 ont une longueur comprise entre 900  $\mu\text{m}$  et 1150  $\mu\text{m}$ , et le coefficient de corrélation entre le nombre de lobes ( $n$ ) et la longueur ( $L$ ) ne diffère pas significativement de zéro ( $r_1 = 0,132$  ; sous l'hypothèse  $\rho_1 = 0$ ,  $P (|r_1| \geq 0,132) > 60 \%$ ). La formation des lobes est donc très rapide, à longueur quasi constante ; ceci explique la rareté des ébauches observées pendant cette période.

Une confirmation est apportée par l'analyse suivante : si les lobes se forment à longueur quasi constante, alors une forte corrélation négative doit exister entre le nombre de lobes ( $n$ ) et les distances entre les plus jeunes lobes et l'apex ( $da$ ) d'une part, et entre les plus jeunes lobes et la base ( $db$ ) d'autre part. C'est bien ce que nous observons (Pl. 2, 2, 3 ; les coefficients de corrélation sont respectivement  $r_2 = -0,910$  et  $r_3 = -0,806$ ).

Inversement, les coefficients de corrélation entre  $da$  et  $L$ , et entre  $db$  et  $L$  seront nuls



Pl. 1. — *Castanea sativa* Miller : 1, contour et nervation d'une feuille adulte ; 2, contour et nervation d'une stipule adulte ; 3, évolution des contours, durant la croissance, des ébauches foliaires et des stipules (S et S' appartenant aux ébauches foliaires A, B, E et I). Les nombreux poils hyalins ou glanduleux ne sont pas représentés.

par hypothèse, or nous avons obtenu respectivement  $r_4 = -0,002$  (sous l'hypothèse  $\rho_4 = 0$ ,  $P(|r_4| \geq 0,002) \simeq 1$ ) et  $r_5 = 0,150$  (sous l'hypothèse  $\rho_5 = 0$ ,  $P(|r_5| > 0,150) > 55\%$ ).

Lorsque tous les lobes latéraux sont formés, les distances  $d_a$  et  $d_b$  augmentent régulièrement avec  $L$  (Pl. 2, 4, 5 ; coefficients de corrélation respectivement  $r'_4 = 0,927$  et  $r'_5 = 0,748$ ). Cette différence avec la période précédente permet, d'ailleurs, d'estimer le moment où tous les lobes sont formés (pour  $L = 1150 \mu\text{m}$ ).

### Acquisition de la forme et développement

En résumé des paragraphes précédents, nous pouvons maintenant fournir la liste des différentes étapes de la croissance foliaire en fonction de la longueur des ébauches :

— *Acquisition de la forme* :

- $L < 500 \mu\text{m}$  : initiation et développement du rachis seul ;
- $500 \mu\text{m} < L < 900 \mu\text{m}$  : initiation du limbe ;
- $900 \mu\text{m} < L < 1150 \mu\text{m}$  : initiation des lobes latéraux ;
- $1150 \mu\text{m} < L < 1500 \mu\text{m}$  : épaissement des nervures latérales.

— *Développement de la forme* :  $L > 1500 \mu\text{m}$ .

## 2. ACTIVITÉ MITOTIQUE DE LA JEUNE ÉBAUCHE

Seront étudiées ici les seules ébauches dont la longueur est inférieure à  $1500 \mu\text{m}$ , l'acquisition de la forme étant le sujet de notre étude. Le réactif de Schiff permet de noter avec précision l'emplacement et l'orientation des mitoses, pourvu que l'épaisseur des tissus ne soit pas trop grande. Or, la préfoliation est conduplicée (le limbe est plié le long du rachis) ; nous devons donc partager l'ébauche en deux moitiés et ainsi limiter notre étude à celle du limbe. Le sacrifice du rachis est toutefois un inconvénient mineur puisque sa forme reste inchangée au cours du développement.

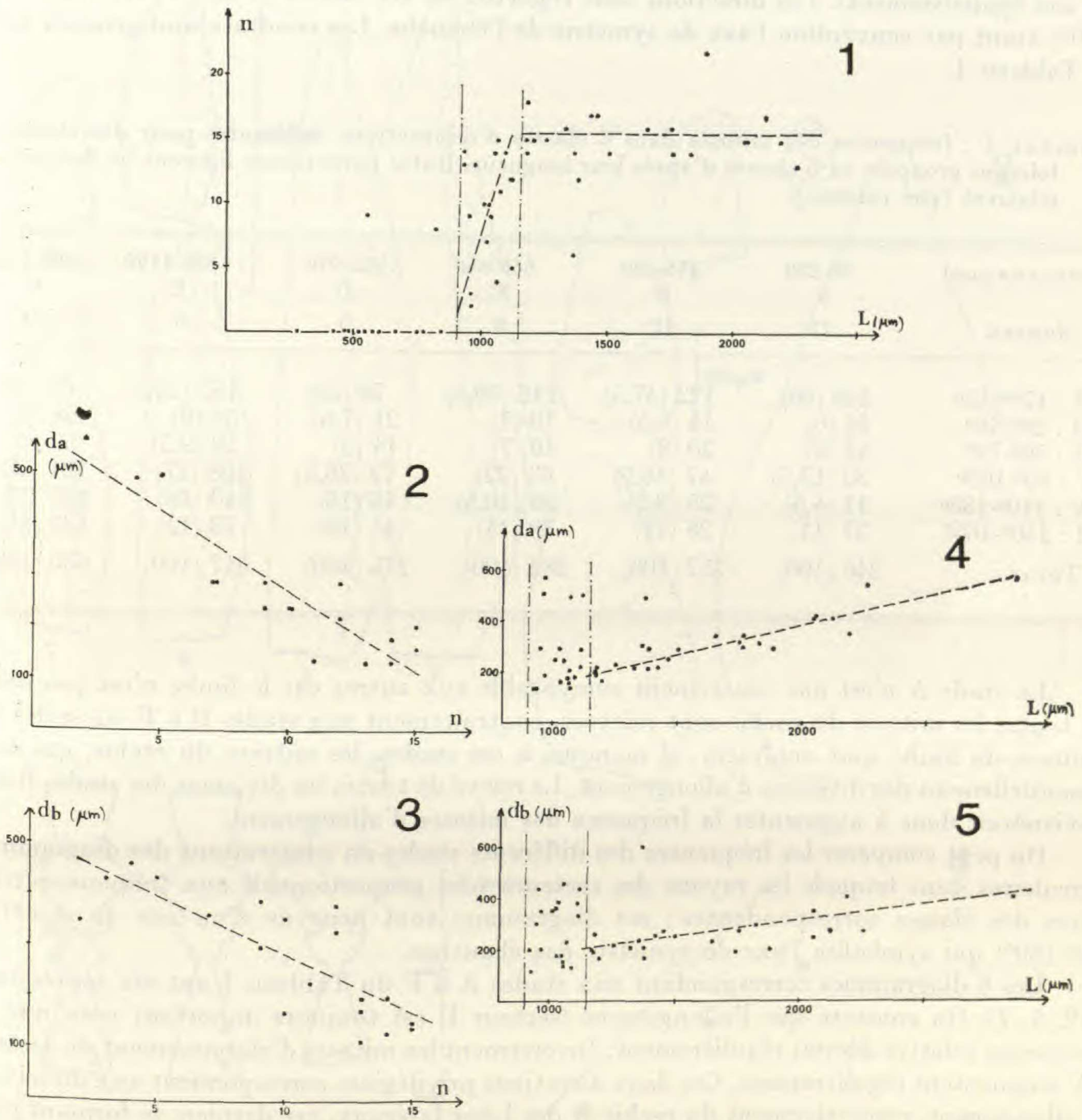
### Généralités

Quelques ébauches étudiées sont représentées Pl. 3, 1. Chaque métaphase, anaphase et télophase est représentée par sa plaque métaphasique. Pour les appendices B à F, seules les mitoses du limbe sont figurées. Nous faisons 2 constatations :

- a) l'activité mitotique est répartie dans tout le limbe ; d'après ce critère il n'y a ni méristème apical, ni méristème marginal ;
- b) la densité des mitoses n'est pas homogène.

### Directions de croissance

La Pl. 3, 1 montre bien que si les mitoses d'allongement paraissent nombreuses, toutes les orientations mitotiques sont représentées, dans le plan du limbe. Nous chercherons donc



Pl. 2. — Relations entre la longueur des ébauches (L), le nombre de leurs lobes (n), la distance entre le lobe le plus apical et l'apex (da) et la distance entre le lobe le plus basal et la base (db) ; 1, 4, 5 : entre les 2 lignes tiretées parallèles aux ordonnées se situe la période d'initiation des lobes ; lignes tiretées obliques : droites de régression, au sens des moindres rectangles (Fig. 1), au sens des moindres carrés (Fig. 2-5).

quelles sont les fréquences de mitoses dans les différentes directions du plan (nous ne tenons donc compte que des mitoses affectant les contours du limbe et non des mitoses responsables de son épaissement). Les directions sont réparties en six classes ; l'axe de référence ( $0^{\circ}$ - $180^{\circ}$ ) étant par convention l'axe de symétrie de l'ébauche. Les résultats sont groupés dans le Tableau 1.

TABLEAU 1 : fréquences des mitoses dans 6 classes d'orientations différentes pour des ébauches foliaires groupées en 6 classes d'après leur longueur. Entre parenthèses figurent les fréquences relatives (par colonne).

LONGUEUR ( $\mu\text{m}$ )	90-280 A	345-580 B	665-840 C	925-970 D	1035-1120 E	1200-1420 F
NOMBRE	12	12	6	5	8	5
I : $170^{\circ}$ - $15^{\circ}$	148 (60)	122 (47,5)	112 (39,5)	79 (29)	152 (24,5)	125 (20)
II : $20^{\circ}$ - $45^{\circ}$	15 (6)	15 (5,5)	19 (7)	21 (7,5)	56 (9)	58 (9)
III : $50^{\circ}$ - $75^{\circ}$	12 (5)	20 (8)	19 (7)	14 (5)	59 (9,5)	50 (8)
IV : $80^{\circ}$ - $105^{\circ}$	33 (13,5)	47 (18,5)	63 (22)	72 (26,5)	168 (27)	131 (20,5)
V : $110^{\circ}$ - $135^{\circ}$	11 (4,5)	25 (9,5)	30 (10,5)	45 (16)	110 (18)	134 (21,5)
VI : $140^{\circ}$ - $165^{\circ}$	27 (11)	28 (11)	39 (14)	44 (16)	73 (12)	132 (21)
TOTAL	246 (100)	257 (100)	282 (100)	275 (100)	617 (100)	630 (100)

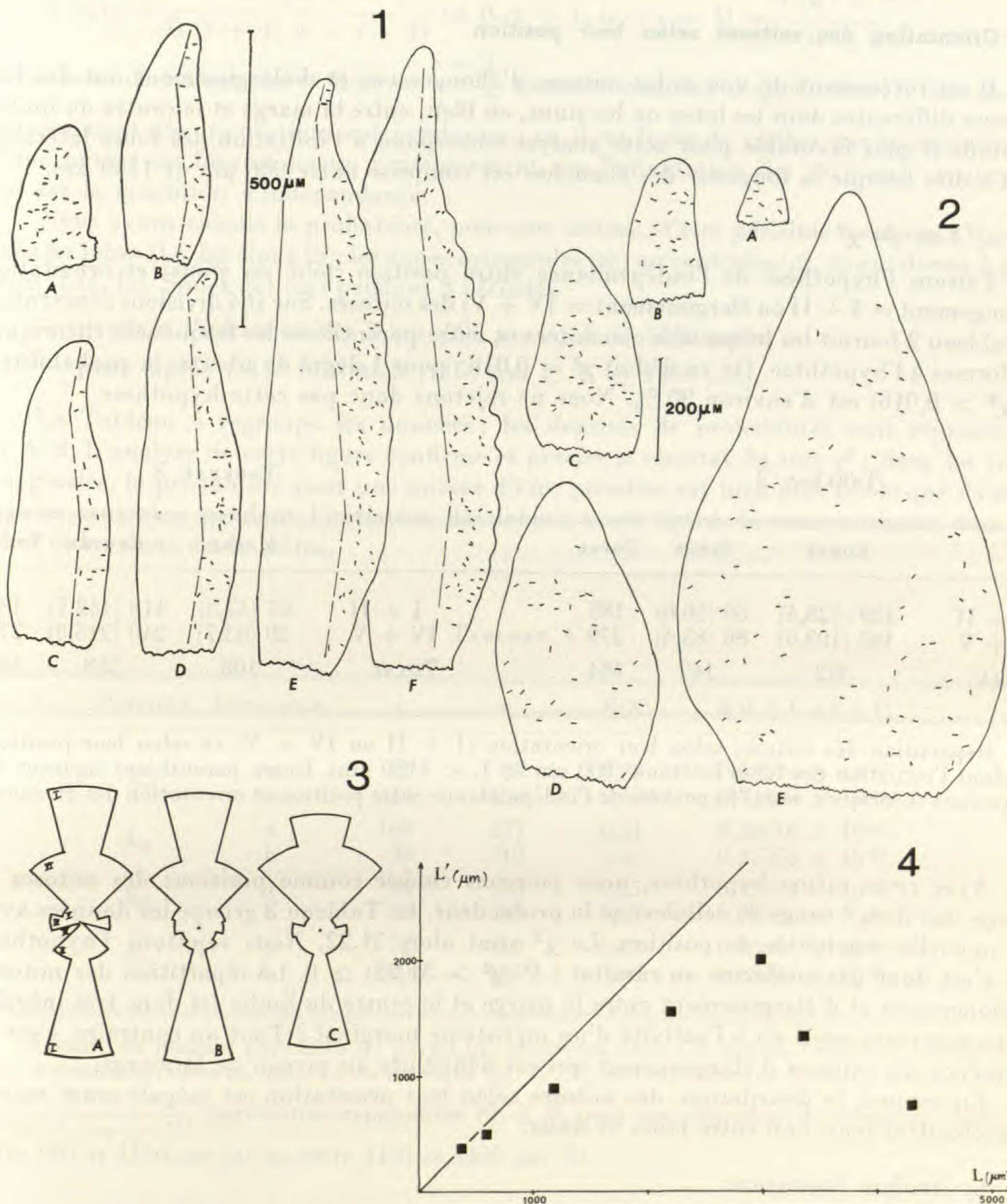
Le stade A n'est pas exactement comparable aux autres car le limbe n'est pas initié et toutes les mitoses du rachis sont relevées, contrairement aux stades B à F où seules les mitoses du limbe sont analysées ; il manque, à ces stades, les mitoses du rachis, qui sont essentiellement des divisions d'allongement. Le relevé de toutes les divisions des stades B à F reviendrait donc à augmenter la fréquence des mitoses d'allongement.

On peut comparer les fréquences des différents stades en construisant des diagrammes circulaires dans lesquels les rayons des secteurs sont proportionnels aux fréquences relatives des classes correspondantes ; ces diagrammes sont pourvus d'un axe de symétrie ( $0^{\circ}$ - $180^{\circ}$ ) qui symbolise l'axe de symétrie des ébauches.

Les 6 diagrammes correspondant aux stades A à F du Tableau 1 ont été représentés (Pl. 4, 1). On constate que l'allongement (secteur I) est toujours important mais que sa fréquence relative décroît régulièrement. Inversement les mitoses d'élargissement du secteur IV augmentent régulièrement. Ces deux directions privilégiées correspondent aux directions d'allongement, respectivement du rachis et des lobes latéraux, ces derniers se formant pendant les stades D et E.

Quand la forme est à peu près fixée (stade F), la distribution des mitoses est homogène dans les différentes directions du plan.

On peut reporter sur un graphique (Pl. 4, 4) les fréquences relatives des mitoses des secteurs I + II (allongement), IV + V (élargissement) et III + VI (intermédiaire). Du stade A à E, il y a quasi constance de l'ensemble III + VI avec augmentation régulière de IV + V ; au stade F, les trois fréquences sont à peu près égales (I + II = 29 % ; III + VI = 29 % ; IV + V = 42 %).



Pl. 3. — 1, contours du limbe et mitoses, représentées par leur plaque métaphasique, donc prophases exclues, d'ébauches sectionnées longitudinalement, sauf en A où les mitoses du rachis sont alors également représentées ; 2, contours et mitoses (prophases exclues), représentées par leur plaque métaphasique, de quelques jeunes stipules ; 3, diagrammes figurant les fréquences relatives des mitoses dans six classes de directions de croissance. La symétrie bilatérale symbolise la symétrie bilatérale des stipules ; 4, relation entre la longueur des stipules (L) et la longueur de la zone basale méristématique (L').

### Orientation des mitoses selon leur position

Il est intéressant de voir si les mitoses d'allongement et d'élargissement ont des fréquences différentes dans les lobes ou les sinus, ou bien, entre la marge et le centre du limbe. Le stade le plus favorable pour cette analyse correspond à l'initiation des lobes latéraux, c'est-à-dire lorsque la longueur des ébauches est comprise entre 900  $\mu\text{m}$  et 1150  $\mu\text{m}$ .

#### a) Test du $\chi^2$

Faisons l'hypothèse de l'indépendance entre position (lobe ou sinus) et orientation (allongement = I + II ou élargissement = IV + V) des mitoses. Sur 464 divisions concernées, le Tableau 2 fournit les fréquences constatées et entre parenthèses les fréquences théoriques conformes à l'hypothèse. On en déduit  $\chi^2 = 0,016$  ; pour 1 degré de liberté, la probabilité :  $P(\chi^2 > 0,016)$  est d'environ 90 %. Nous ne rejetons donc pas cette hypothèse.

TABLEAU 2

	LOBES	SINUS	TOTAL
I + II	129 (128,4)	56 (56,6)	185
IV + V	193 (193,6)	86 (85,4)	279
TOTAL	322	142	464

TABLEAU 3

	MARGE	CENTRE	TOTAL
I + II	67 (42,3)	118 (142,7)	185
IV + V	39 (63,7)	240 (215,3)	279
TOTAL	106	358	464

Répartition des mitoses selon leur orientation (I + II ou IV + V) et selon leur position, pendant l'initiation des lobes latéraux ( $900 \mu\text{m} < L < 1150 \mu\text{m}$ ). Entre parenthèses figurent les fréquences théoriques, sous l'hypothèse de l'indépendance entre position et orientation des divisions.

Avec cette même hypothèse, nous pouvons choisir comme positions des mitoses la marge (sur 3 ou 4 rangs de cellules) ou la profondeur. Le Tableau 3 groupe les données avec ces nouvelles modalités de position. Le  $\chi^2$  vaut alors 31,22. Nous rejetons l'hypothèse qui n'est donc pas conforme au résultat :  $P(\chi^2 > 31,22) \simeq 0$ . La répartition des mitoses d'allongement et d'élargissement entre la marge et le centre du limbe est donc très inégale. L'élargissement est-il dû à l'activité d'un méristème marginal ? Tout au contraire, c'est la fréquence des mitoses d'élargissement qui est déficitaire au niveau de la marge.

En résumé, la distribution des mitoses selon leur orientation est inégale entre marge et profondeur mais non entre lobes et sinus.

#### b) Analyse bayésienne

Supposons que dans une région donnée de l'ébauche, la chance pour une mitose d'avoir une orientation donnée vaille  $x$  (constante comprise entre 0 et 1). Nous attribuerons à  $x$  une densité de probabilité « a priori » constante ( $\varphi(x) = 1$ ). Mais, après l'observation des  $n$  mitoses dont  $r$  avaient l'orientation voulue, nous modifierons la densité de probabilité d'après la formule de Bayes pour tenir compte du résultat :



$$\varphi (x/r) = \frac{x^r (1-x)^{n-r}}{B (r + 1, n - r + 1)} \text{ où } B (r + 1, n - r + 1) = \frac{r (n! - r)!}{(n + 1)!}$$

l'espérance de  $x$  vaut alors :  $E(x) = \frac{r + 1}{n + 2}$ . Comme condition d'application, il faut que les mitoses aient des orientations indépendantes ; or, il est facile de vérifier que la connaissance d'une mitose ne fournit aucun renseignement sur l'orientation des divisions voisines, ce qui est la condition d'indépendance.

Nous avons calculé la probabilité, pour une mitose, d'être péricline (secteurs IV + V) dans les lobes (L), les sinus (S), les zones marginales (m) ou centrales (c), ce qui donne 4 positions (Lm, Lc, Sm et Sc) ceci pendant 2 périodes :

- pendant l'initiation des lobes ( $900 \mu\text{m} < L < 1150 \mu\text{m}$ ) ;
- juste après cette initiation ( $1150 \mu\text{m} < L < 1450 \mu\text{m}$ ).

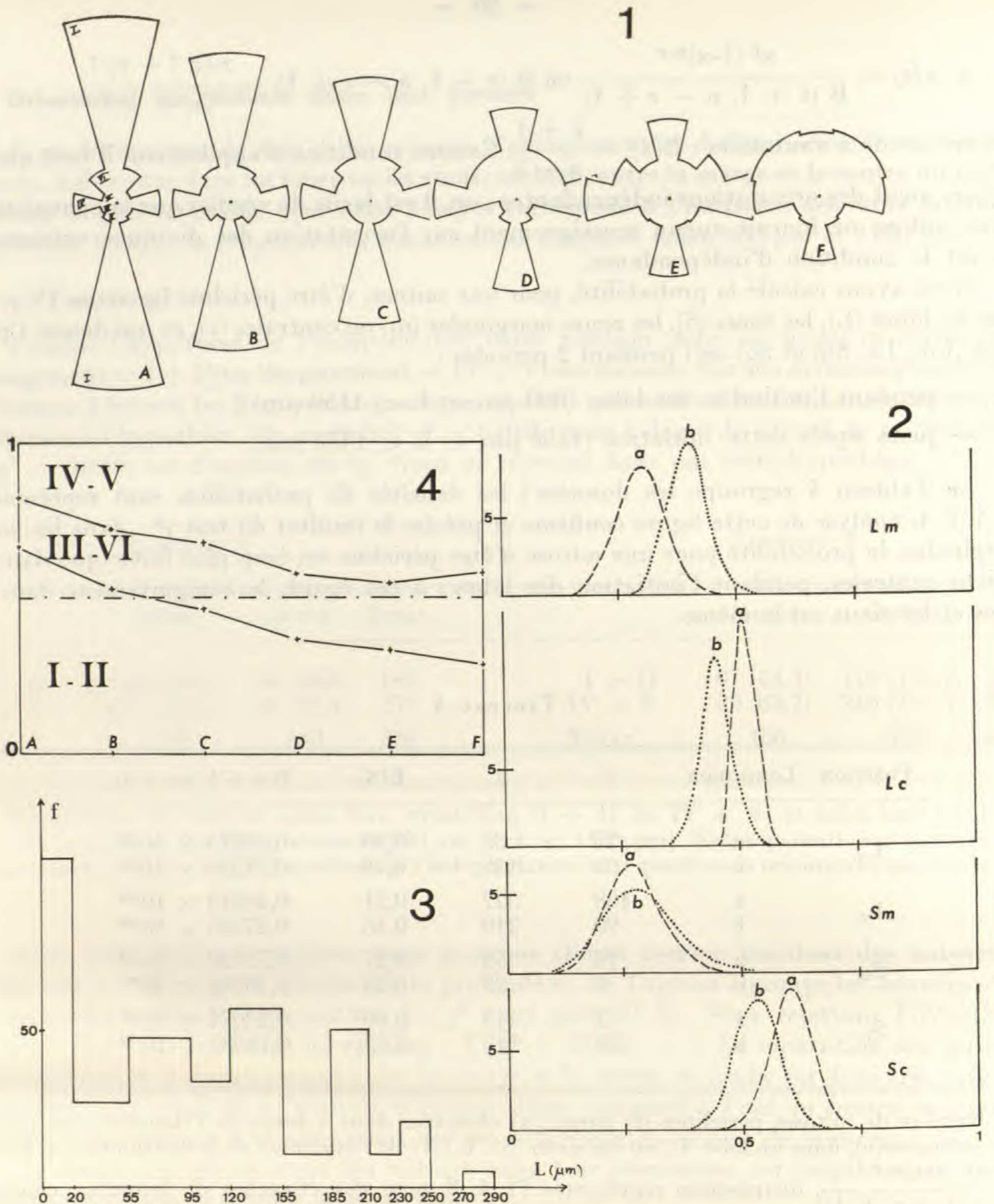
Le Tableau 4 regroupe les données ; les densités de probabilités sont représentées Pl. 4, 2. L'analyse de cette figure confirme et précise le résultat du test  $\chi^2$  : dans les zones marginales, la probabilité pour une mitose d'être péricline est bien plus faible que dans les régions centrales, pendant l'initiation des lobes ; à cet égard, le comportement dans les lobes et les sinus est le même.

TABLEAU 4

POSITION	LONGUEUR	r	n	E(X)	B (r + 1, n-r + 1)
L <sub>m</sub>	a	25	85	0,30	$0,53274 \times 10^{-23}$
	b	55	139	0,40	$0,31258 \times 10^{-41}$
L <sub>c</sub>	a	168	327	0,51	$0,28616 \times 10^{-99}$
	b	99	219	0,45	$0,27336 \times 10^{-66}$
S <sub>m</sub>	a	14	53	0,27	$0,77033 \times 10^{-14}$
	b	9	33	0,29	$0,76261 \times 10^{-9}$
S <sub>c</sub>	a	72	119	0,60	$0,23674 \times 10^{-35}$
	b	60	113	0,53	$0,13985 \times 10^{-34}$

Nombre de mitoses périclines (r) parmi (n) observées dans 4 zones de l'ébauche : marginales (m), centrales (c), dans un lobe (L) ou un sinus (S). E (X) est l'espérance de la distribution  $\varphi (x/r) = \frac{x^r (1-x)^{n-r}}{B(r + 1, n-r + 1)}$ , distribution représentée Pl. 4, 2, pour des ébauches de longueur comprise entre 900 et 1150  $\mu\text{m}$  (a) ou entre 1150 et 1450  $\mu\text{m}$  (b).

En ce qui concerne l'évolution dans le temps, on constate que les probabilités sont semblables au niveau des sinus, mais que dans les lobes il y a une forte augmentation de la probabilité dans la zone marginale qui devient semblable à la zone centrale (courbes b des graphiques Lm et Lc).



Pl. 4. — 1, diagrammes figurant les fréquences relatives de mitoses dans 6 classes de directions de croissance. La symétrie bilatérale symbolise la symétrie bilatérale des feuilles ; 2, densités de probabilités de mitoses d'élargissement (IV + V) selon leur position : marge (m), centre (c), lobe (L) ou sinus (S), pour des feuilles de longueur comprise entre 900 et 1150  $\mu\text{m}$  (a) et 1150 et 1450  $\mu\text{m}$  (b) ; 3, fréquences unitaires (f) des mitoses profondes en fonction de leur distance (L) à une origine située vers le milieu du limbe, pour des ébauches de longueur comprise entre 500 et 900  $\mu\text{m}$  ; 4, fréquences relatives des mitoses d'allongement (I + II), d'élargissement (IV + V) ou intermédiaires (III + VI), pour les six classes de feuilles de A à F).

### Densité des mitoses

Si l'orientation des mitoses est la même dans les lobes et les sinus, la formation de ces lobes ne peut s'expliquer que par une densité de divisions plus grande, ou bien une durée de cycle mitotique plus brève. Si nous admettons la constance du cycle mitotique pour les cellules d'un tissu homogène, comme l'est le jeune limbe, alors le premier signe de l'initiation des éléments latéraux doit être une densité plus grande de mitoses en certains points. Nous constatons bien une densité inégale de mitoses (Pl. 3, 1) mais seule une étude quantitative des stades précédant l'initiation des lobes peut nous montrer le lien éventuel entre des densités et des foyers de croissance.

Les premiers lobes apparaissent vers le milieu du limbe, initiés par des cellules non épidermiques ; nous mesurerons donc les distances des mitoses non épidermiques à l'une d'elles située vers le milieu du limbe et choisie comme origine. Les ébauches étudiées ont entre 500 et 900  $\mu\text{m}$  de longueur. Les données sont réparties en classes d'amplitudes définies d'après les critères suivants :

- 1) il y a alternance entre classes à effectifs élevés et à effectifs réduits ;
- 2) l'écart entre 2 classes contiguës doit être maximum ;
- 3) les amplitudes des classes à fréquences élevées doivent décroître régulièrement (le volume des éléments médians les premiers formés est plus important que celui des éléments plus jeunes) ;
- 4) les amplitudes des classes à fréquences faibles doivent aussi décroître légèrement.

La Pl. 4, 3 et le Tableau 5 regroupent les données.

TABLEAU 5 : Mitoses non épidermiques des ébauches de longueur comprise entre 500 et 900  $\mu\text{m}$  groupées en 11 classes selon leur distance à une origine située dans la partie médiane du lobe.

Amplitude ( $\mu\text{m}$ )	20	35	40	25	35	30	25	20	20	20	20
Fréquence	20	9	28	8	19	3	12	2	4	0	1
Rang	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11

Comme le zéro est le centre de la première classe, son amplitude réelle est de 40  $\mu\text{m}$  avec une fréquence estimée de 40 mitoses. Le mode de mesure favorise évidemment cette classe par rapport à la troisième d'où la fréquence assez faible de celle-ci (Pl. 4, 3). La décroissance régulière des fréquences est normale, puisque certaines ébauches n'ont que 550  $\mu\text{m}$  de longueur alors que la Pl. 4, 3 correspondrait à une ébauche de longueur comprise entre 800 et 900  $\mu\text{m}$  ; les distances entre centres des classes d'amplitudes élevées sont respectivement 75, 63, 60, 42, 40 et 40  $\mu\text{m}$  alors que les distances moyennes entre sommets de lobes sont, pour des ébauches de 925 à 970  $\mu\text{m}$  de longueur, et pour un risque de 5 %, comprises dans un intervalle de 43,4 à 76,8  $\mu\text{m}$  pour les lobes médians et 29,4 à 63,1  $\mu\text{m}$  pour les lobes apicaux et basaux.

La périodicité observée dans la fréquence des mitoses profondes du limbe dans les stades précoces est donc conforme à celle des lobes latéraux à l'instant de leur initiation.

## CROISSANCE DES STIPULES

Chaque feuille est encadrée de deux stipules de tailles différentes mais dont on vérifie aisément que leur mode de croissance est le même. Nous ne distinguerons donc pas entre petite et grande stipule.

Elles se présentent, dans les jeunes stades, comme des lames, plus minces que les ébauches foliaires, entières, plus ou moins triangulaires (Pl. 3, 2) et bordées de poils glanduleux croissant en ordre basipète (Pl. 5, D). La taille adulte est de 1,5 à 2 cm et la nervation est parallèle (Pl. 1, 2).

L'observation des mitoses montre l'absence de méristème apical ou marginal (Pl. 3, 2) ainsi qu'une seule direction principale de croissance, celle de l'allongement (Tableau 6 et Pl. 3, 3).

TABLEAU 6 : fréquences des mitoses dans 6 classes d'orientations différentes pour des ébauches stipulaires groupées en 3 classes d'après leur longueur. Entre parenthèses figurent les fréquences relatives (par colonne).

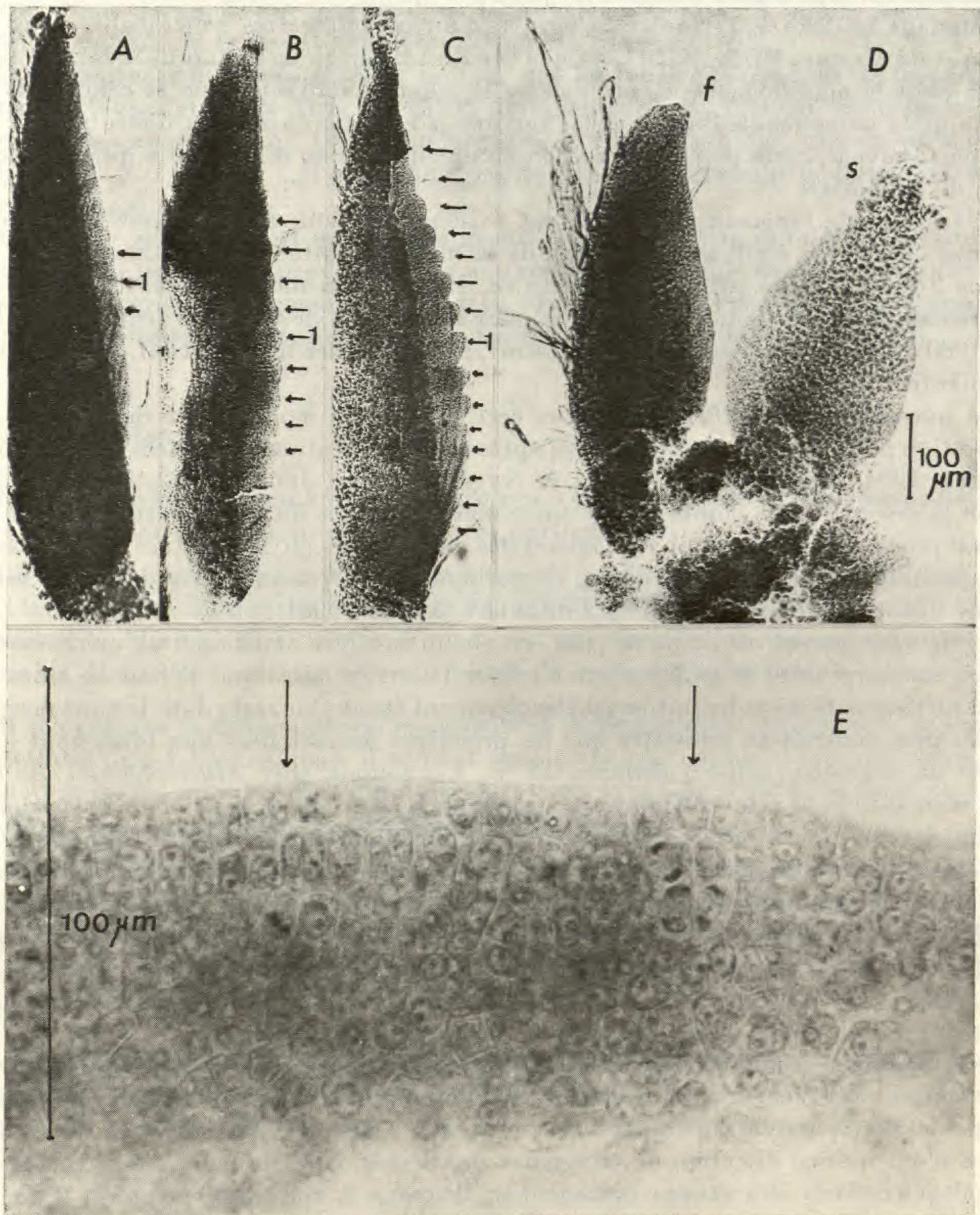
LONGUEUR ( $\mu\text{m}$ )	100-300	400-600	1200
NOMBRE	3	3	1
I = 170°-15°	23 (47)	63 (47)	36 (40)
II = 20°-45°	6 (12,5)	9 (7)	7 (8)
III = 50°-75°	0 (0)	7 (5,5)	7 (8)
IV = 80°-105°	5 (10)	11 (8)	8 (9)
V = 110°-135°	3 (6)	12 (9)	5 (5)
VI = 140°-165°	12 (24,5)	31 (23,5)	27 (30)
TOTAL	49 (100)	133 (100)	90 (100)

La mèresse cesse d'abord à l'apex puis la zone différenciée s'étend progressivement vers la base de la stipule. La Pl. 3, 4 montre l'augmentation de la longueur de la zone méristématique dans les jeunes stades ( $L < 3$  mm) puis sa réduction rapide. Pour une longueur de 5 mm, soit le tiers de la longueur finale, la stipule ne présente plus de mitoses.

## CONCLUSION

### 1. MÉCANISMES GÉNÉRAUX

La forme est fixée très précocement, avant que la longueur de l'ébauche n'atteigne 1,5 mm. Sachant que la feuille adulte mesure 25 cm, si on prend comme variable la longueur,



Pl. 5. — **A-C**, profils de jeunes ébauches sectionnées longitudinalement montrant l'ordre d'apparition des lobes ; les flèches indiquent la position des lobes. Longueurs respectives des ébauches : 1185, 1000 et 1080  $\mu\text{m}$  ; **D**, jeune ébauche vue de profil (f) et sa petite stipule (s) ; **E**, feuille montée à plat ; mise au point sur les couches cellulaires internes du jeune limbe (d'où le manque de netteté, les couches superficielles abaxiales et adaxiales étant partiellement visibles). Les flèches indiquent, d'une part un ensemble de 4 mitoses (dont une prophase) et, d'autre part, une métaphase isolée qui pourraient être à l'origine de lobes. La longueur de l'ébauche est de 250  $\mu\text{m}$ .

la croissance est organogène pendant les premiers 0,6 % de l'allongement, seulement histogène pendant les 99,4 % restant. Il s'agit là d'un caractère très général que nous avons déjà constaté (JEUNE, 1978, 1982). Comme l'écrivent BUGNON & TURLIER (1977), « la période cruciale pour la morphogenèse se situe entre le moment de l'initiation et celui de la construction de la jeune feuille dont tous les territoires essentiels viennent d'être mis en place. Or, le plus souvent, cette période correspond à une dimension d'appendice qui se situe dans l'ordre du millimètre ».

A 1,5 mm de longueur, l'ébauche est évidemment loin d'avoir cessé toute activité mitotique. Il semble d'ailleurs que la fin de la mérése se situe, suivant les espèces, à une taille de 2/3 de la taille adulte (SUNDERLAND, 1959), ou la moitié (MAKSYMOWYCH, 1973) ou même au 1/3 de la taille finale comme pour les stipules de *Castanea* (également, JEUNE 1972, 1980). Pour le déterminisme de la forme, la qualité des mitoses vaut donc mieux que leur quantité.

La microchirurgie confirme d'ailleurs ceci, puisque la modification de la forme ou la régénération ne peuvent être obtenues qu'après expérimentation sur de très jeunes ébauches (NEVILLE, 1964 ; SACHS, 1969 ; WOLTZ & NEVILLE, 1976 ; JEUNE, 1972, 1979). Il faut ici signaler la divergence de points de vue entre morphologistes (la période cruciale de la croissance est précoce et courte) et physiologistes (les phénomènes physiologiques de la croissance : poids, photosynthèse, échanges d'eau, de carbone..., sont mesurés sur des ébauches déjà grandes (CHARLES-EDWARDS, 1979 ; THORNLEY & coll., 1981).

Le développement du limbe ne peut, en aucun cas, être attribué à un méristème marginal ou submarginal si on utilise comme critère l'activité mitotique, l'ébauche étant entièrement méristématique et les mitoses d'élargissement étant plus rares dans la zone marginale. Tout au plus pourrait-on admettre que les premières mitoses liées aux lobes sont dans la seconde ou troisième assise cellulaire (Pl. 5, E), comme chez *Myriophyllum* (TURLIER, 1972), mais sans pour cela attribuer une valeur particulière à ces divisions. Nous rejoignons donc les auteurs qui minimisent le rôle des cellules marginales ou submarginales (FUCHS, 1966, 1975 ; BUGNON, DULIEU & TURLIER, 1966 à 1969 ; THOMASSON, 1969, 1970 ; JEUNE, 1972, 1980 ; MAKSYMOWYCH, 1973 ; JÉRÉMIE, 1973 ; STEWART & DERMEN, 1975 ; COLEMAN & GREYSON, 1976 ; DUBUC-LEBREUX & SATTler, 1981) contrairement à ceux qui accordent un rôle privilégié à ces cellules (LIGNIER, 1887 ; AVERY, 1933 ; FOSTER, 1936 ; HARA, 1957 ; CODACCIONI, 1962 ; HAGEMANN, 1970, 1973 ; KURBS, 1973 ; NISHINO, 1976 ; MAHENDRA & coll., 1978 ; FRANCK, 1979 ; TRIVEDI & coll., 1980).

Les directions principales de la croissance dans les très jeunes stades correspondent aux directions des nervures. En effet, la feuille comporte deux directions de croissance principales correspondant aux directions du rachis et des nervures latérales, alors que les stipules n'ont qu'une direction de croissance privilégiée, celle de leurs nervures parallèles. Ce résultat confirme des études précédentes (BUGNON & coll., 1969 ; JEUNE, 1972, 1979).

## 2. MÉCANISMES SPÉCIFIQUES

La cinétique de la formation des lobes est très particulière. Il y a formation quasi simultanée de tous les lobes sur des ébauches relativement âgées, alors qu'en général l'initiation des lobes est très progressive, par fonctionnement de centres générateurs, et débute

très tôt. Nous avons même constaté que les centres générateurs commencent toujours à fonctionner quand la taille est inférieure à 600  $\mu\text{m}$  (JEUNE, 1982).

Une observation précise montre, en fait, que les lobes apparaissent de façon acropète et basipète (type mixte de TRÉCUL, 1853 ; divergent de TROLL, 1935) conformément aux études de HAGEMANN (1970, 1973) pendant une période très brève, quasiment à longueur constante (Pl. 2, 1 ; 5, A-C). Il n'y a donc pas de centres générateurs de lobes au sens défini ici dans l'introduction.

Une autre différence est perceptible au niveau de l'activité mitotique. Il semble bien que la lobation ne soit pas provoquée par une répartition inégale des mitoses d'orientations différentes, ce qui est fréquemment observé (JEUNE, 1979) mais plutôt par une densité plus élevée des mitoses dans les zones destinées à devenir des lobes (Pl. 4, 3).

### 3. SYNTHÈSE

Les mécanismes généraux de croissance mis à part, la feuille de *Castanea sativa* montre une mise en place de territoires foliaires très particulière :

La feuille se présente, morphogénétiquement parlant, comme une unité dont les éléments latéraux ne sont que des extensions du rachis apparaissant tardivement. Au contraire, les feuilles de *Myriophyllum*, *Hottonia* ou *Vicia*, par exemple, correspondent à une somme d'éléments développés successivement à partir de centres générateurs.

Il se peut que la différence soit essentielle et distingue deux mécanismes de croissance irréductibles l'un à l'autre, mais il se peut également qu'à partir d'un mécanisme unique d'induction rythmique des éléments latéraux, deux types de croissance aient pu s'individualiser :

- a) Induction suivie immédiatement de la formation des éléments latéraux, d'où l'observation des centres générateurs (même rythmicité entre induction et initiation) ;
- b) Induction non suivie de formation immédiate ; développement prolongé du rachis puis seulement initiation des lobes, qui peut être très rapide puisqu'ils sont alors tous induits.

Cette hypothèse présente deux avantages : elle fait dériver les deux types de feuilles d'une même origine, ce qui paraît logique et elle s'accorde bien avec le fait que l'initiation des lobes est précoce quand on observe des centres générateurs et tardive dans le cas contraire.

### BIBLIOGRAPHIE

- AVERY, G. S., 1933. — Structure and development of the tobacco leaf. *Amer. J. Bot.* 20 : 565-590.
- BUGNON, F., DULIEU, H. & TURLIER, M. F., 1969. — Rapports entre les directions fondamentales de croissance dans l'ébauche et la nervation foliaire. *C. r. Acad. Sc., Paris, sér. D*, 268 : 48-50.

- BUGNON, F. & TURLIER, M. F., 1977. — Bases morphologiques fondamentales pour une étude de la morphogénèse foliaire. *Rev. Gen. Bot.* 84 : 333-340.
- CHARLES-EDWARDS, D. A., 1979. — A model for leaf growth. *Ann. Bot.* 44 (5) : 523-535.
- CODACCIONI, M., 1962. — Recherches morphologiques et ontogéniques sur quelques Cupulifères. *Rev. Cyt. et Biol. vég.* 25 (1-2) : 1-208.
- COLEMAN, W. K. & GREYSON, R. I., 1976. — The growth and development of the leaf in tomato (*Lycopersicum esculentum*) II : Leaf ontogeny. *Canad. J. Bot.* 54 (3) : 2074-2717.
- DUBUC-LEBREUX, M. A. & SATTler, R., 1981. — Développement des organes foliacés chez *Nicotiana tabacum* L. et le problème des méristèmes marginaux. *Phytomorphology* 30 (1) : 17-32.
- DULIEU, H. & BUGNON, F., 1966. — Chimères chlorophylliennes mériclines et ontogénie foliaire chez le tabac (*Nicotiana tabacum* L.). *C. r. Acad. Sc., Paris*, sér. D, 263 : 1714-1717.
- DULIEU, H., 1968. — Emploi des chimères chlorophylliennes pour l'étude de l'ontogénie foliaire. *Bull. Soc. Bot. Bourgogne* 25 : 1-60.
- FOSTER, A., 1936. — Leaf differentiation in Angiosperms. *Bot. Rev.* 2 : 349-372.
- FRANCK, D. H., 1979. — Development of vein pattern in leaves of *Ostrya virginiana* (Betulaceæ). *Bot. Gaz.* 140 (1) : 77-83.
- FUCHS, C., 1966. — Observations sur l'extension en largeur du limbe de *Lupinus albus* L. *C. r. Acad. Sc., Paris*, sér. D, 263 : 1212-1215.
- FUCHS, C., 1975. — Ontogénèse foliaire et acquisition de la forme chez le *Tropæolum peregrinum* L. I. Les premiers stades de l'ontogénèse du lobe médian. *Ann. Sc. Nat., Bot., Paris*, sér. 12, 16 : 321-390.
- HAGEMANN, W., 1970. — Studien zur Entwicklungsgeschichte der Angiospermenblätter. *Bot. Jahrb.* 90 (3) : 297-413.
- HAGEMANN, W., 1973. — The organization of shoot development. *Revista de Biologia* 9 (1-4) : 43-67.
- HARA, N., 1957. — On the types of the marginal growth in dicotyledonous leaves. *Bot. Mag. Tokyo* 70 : 110-114.
- JÉRÉMIE, J., 1973. — *Recherches sur la croissance foliaire du Nicotiana tabacum* L. cvar. « Cabot enation ». Thèse 3<sup>e</sup> cycle, Paris, 1 vol., 110 p.
- JEUNE, B., 1972. — Observations et expérimentation sur les feuilles juvéniles de *Paulownia tomentosa* H. Bn. *Bull. Soc. Bot. France* 119 : 215-230.
- JEUNE, B., 1978. — Sur le déterminisme de la forme des feuilles de dicotylédones. *Adansonia*, sér. 2, 18 (1) : 83-94.
- JEUNE, B., 1979. — *Sur la détermination de la forme de quelques feuilles simples et à développement basipète chez les dicotylédones*. Thèse, Paris, 2 vol. Ronéo, 369 p.
- JEUNE, B., 1980. — Croissance des feuilles et stipules du *Gallium palustre* L. subsp. *elongatum* (Presl.) Lange et valeur phylogénique de ces données de morphogénèse. *Adansonia*, sér. 2, 19 (4) : 451-465.
- JEUNE, B., 1982. — Modèle empirique du développement des feuilles de dicotylédones. *Bull. Mus. natn. Hist. nat., Paris*, 4<sup>e</sup> sér., section B, *Adansonia* 3 (4) : 433-459.
- KURBS, S., 1973. — Vergleichend entwicklungsgesdrichtliche Studien an Ranunculaceen-Fiederblättern. *Bot. Jahrb.* 93 (1) : 130-167 et 93 (3) : 325-371.
- LIGNIER, O., 1887. — Recherches sur l'anatomie comparée des Calycanthées, des Mélastomacées et des Myrtacées. *Archives Bot. Nord de la France* 3 : 1-455.
- MAHENDRA, K., BAIRATH, I. & NATHAWAT, G. S., 1978. — Shoot apical organization, development of leaf and axillary bud, and floral transition in *Crotalaria Juncea*. *Phytomorphology* 28 (1) : 20-30.
- MAKSYMOWYCH, R., 1973. — *Analysis of leaf development*. Cambridge Univ. Press, 1 vol., 109 p.



- NEVILLE, P., 1964. — Corrélations morphogènes entre les différentes parties de la feuille de *Gleditsia triacanthos* L. *Ann. Sc. Nat., Bot.*, sér. 12, 5 (4) : 785-798.
- NISHINO, E., 1976. — Developmental anatomy of foliage leaves, bracts, calyx and corolla in *pharbitis* nil. *Bot. Mag. Tokyo* 89 : 191-209.
- STEWART, R. N., & DERMEN, H., 1975. — Flexibility in ontogeny as shown by the contribution of the shoot apical layers to leaves of periclinal chimeras. *Amer. J. Bot.* 62 (9) : 935-947.
- SUNDERLAND, N., 1959. — Cell division and expansion in the growth of the leaf. *Jour. of exper. Bot.* 11 (31) : 68-80.
- THOMASSON, M., 1969. — De la croissance de la feuille du *Jasminum nudiflorum* Lindl. *Bull. Soc. Bot. France* 116 : 49-56.
- THOMASSON, M., 1970. — Quelques observations sur la répartition des zones de croissance de la feuille de *Jasminum nudiflorum* Lindl. *Candollea* 25 (2) : 297-340.
- THORNLEY, J. H. M., HURD, R. G. & POOLEY, A., 1981. — A model of growth of the fifth leaf of tomato. *Ann. Bot.* 48 : 327-340.
- TRÉCUL, A., 1853. — Mémoire sur la formation des feuilles. *Ann. Sc. Nat., Bot.*, 3<sup>e</sup> sér., 20 : 235-314.
- TRIVEDI, M. L., CHAKRAVORTY, S. & CHAKRAVORTY, R., 1980. — The shoot apical organization and development of leaf in *Eugenia jambolana*. *Acta Bot. Indica* 8 (2) : 148-153.
- TROLL, W., 1935. — Vergleichende Morphologie der Fiederblätter. *Nova Acta Leopold.* 2 : 315-455.
- TURLIER, M. F., 1972. — Recherches sur l'organogénèse foliaire précoce. 1. Deux espèces types pour les ramifications dichotome et latérale (*Ceratophyllum demersum* L. et *Myriophyllum spicatum* L.) *Rev. Gen. Bot.* 79 : 297-308.
- WOLTZ, P. & NEVILLE, P., 1976. — Morphogénèse chez *Gleditsia triacanthos* L. X. Reconstitution du méristème de l'ébauche de la feuille 6 après incision radiale. *Rev. Gen. Bot.* 83 : 37-52.